

ВЛИЈАНИЕ НА РЕАКЦИЈАТА НА СРЕДИНАТА ВРЗ РАЗВОЈОТ НА *ALTERNARIA ALTERNATA* КАЈ ТУТУНОТ

Биљана Гвероска, Петре Ташкоски
Институт за тутун - Прилеп

ВОВЕД

Паразитната габа *Alternaria alternata* е космополит во однос на реоните и културите кои ги напаѓа. Се карактеризира со паразитски начин на исхрана, но и со сапрофитски. Според тоа, таа опстојува при одредени еколошки фактори кои го овозможуваат нејзиниот развој и одржување.

Оваа габа паразитира и кај тутунот и ја предизвикува болеста кафена дамкавост. Нејзиното присуство, деградирајќи го квалитетот на тутунските листови, предизвикува штети по самото тутунопроизводство.

Во нашите простори таа е позната одамна, но првпат за неа има пишувано Мицковски (1977). Нејзиното присуство се актуелизира со воведувањето на крупнолистните типови тутун, како и со интензивниот начин на тутунопроизводство. Традицијата на производство на тутунот како монокултура ја зголемува можноста за појава на повеќе болести, меѓу кои и кафената дамкавост. Нерационалната примена на агротехничките операции создава директни услови за остварување на инфекцијата и појава на оваа болест. Но, истите доведуваат и до промена на бројни фактори во самата средина, како на пр. промена на соодносот на хранливите материи и реакцијата на средината кои, пак, овозможуваат развој на патогенот, со што на индиректен начин се создаваат услови за болеста.

Испитувани се бројни фактори кои влијаат врз развојот на патогената габа *A. alternata*. Температурата, влажноста, хранливата подлога како и реакцијата на среди-

ната се најважните еколошки фактори за развојот на овој патоген.

pH вредноста на хранливата подлога влијае како врз развојот на мицелијата, така и врз способноста за формирање на конидии.

Според Јованчев (1997), оваа габа најдобро се развива при pH 6,5, а најдобро споруира на pH 5,8 до 6,9.

Misaghi et al. (1978) констатирале дека *A. alternata* се развива и споруира при pH опсег од 4 до 8, а оптимално на pH 7.

Sami Saad и Hagedorn (1970), при испитување на неколку изолати од овој патоген, констатирале дека габата се развива при pH опсег од 4,4 до 7,6.

Податоци за pH вредноста при која оваа габа се развива изнесува и Lacey (1992). Исто така, тој укажува на разликите во оптималниот pH за конидиските и мицелијарните изолати кај други видови *Alternaria*.

Rotem (1994), во својата студија за родот *Alternaria*, изнесува податоци за влијанието на реакцијата на средината врз повеќе габи од овој род.

Влијанието на pH вредноста на средината врз развојот и споруацијата на *A. alternata* - причинителот на болеста кафена дамкавост кај тутунот во Р. Македонија, беше цел на нашите истражувања.

Испитувана е способноста на *A. alternata* да се развива на кисела, односно базична средина и одредена е оптималната pH вредност на хранливата подлога за нејзиниот развој и споруација.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

При овие испитувања беше користена чиста култура од патогената габа *A. alternata*, добиена по вообичаен фитопатолошки метод за изолација, односно отсекување на фрагменти од преодниот дел меѓу дамката и здравото ткиво и поставување на подлога воден агар. Потоа се вршеше пресејување на

добиената култура на подлога компирдекстрозен агар (КДА) и инкубација од 15 дена на температура од 25°C.

Во испитувањата беа користени шест изолати од габата, добиени од неколку сорти тутун од разни тутунопроизводни реони (Табела 1).

Табела 1 Преглед на испитуваните изолати
Table 1. Investigated isolates

Изолат Isolate	Сорта тутун Variety	Реон Region
К 11 / К 11	МС / МС	Кочани / Kocani
С 53 / S 53	МВ 1 / MV 1	Струмица / Strumica
РЈ 70 / RJ 70	Јв 125/3 / Jv 125/3	Радовиш (Јаргулица) Radovis (Jargulica)
КУ 110 / KU 110	Отља / Otlia	Куманово/ Kumanovo
МБ 115 / MB 115	МВ 1 / MV 1	Македонски Брод Makedonski Brod
П 129 / P 129	П 23 / P 23	Прилеп / Prilep

Секој изолат беше испитуван на различна рН вредност. За таа цел беше подготвувана хранлива подлога КДА со различна рН вредност од 3 до 8, вклучувајќи ги вредностите 6,3, 6,5 и 6,7. Притоа беше користен рН - метар, а дотерувањето на рН вредноста се вршеше со употреба на 10% NaOH при повисоките, базични вредности и 10% HCl за дотерување на киселата средина. Хранливата подлога со различна рН вредност беше стерилизирана и разлевана по 20 ml во во петриеви кутии со дијаметар 110 mm. Од добиената чиста култура од габата се земаа фрагменти со големина 3-5 mm² и се засејуваа на подлога КДА со соодветната рН вредност.

Опитот беше поставен во три повторувања за секој изолат. При секое повторување беа засеани по 5 петриеви кутии за секоја варијанта, односно рН вредност.

Инкубацијата се вршеше во термостат

на температура од 25°C. Во текот на 10-дневниот интервал на испитување, секој-дневно беше мерен дијаметарот на колонијата од долната страна на петриевата кутија, во двете спротивни насоки под прав агол. Резултатите за големината на дијаметарот на колонијата кај секој изолат се прикажани како средна вредност од трите повторувања. За подобра прегледност, резултатите за влијанието на рН на средината се претставени како средна вредност од испитуваните изолати.

Оцена на интензитетот на создавање на конидии при секоја рН вредност се вршеше по 10 дена од инкубацијата. Тој беше одредуван со директно микроскопирање на колонијата одгледана на различни рН вредности, како и со микроскопирање на препарати од приготвената суспензија од колонијата по интервалот на набљудување.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Влијание на рН вредноста врз развојот на габата

Динамиката на развојот на габата при различни рН вредности на хранливата подлога е претставена во Табела 2.

Од податоците во наведената табела може да се забележи дека хранливата подлога со рН 3 не е поволна за развој на габата. Таа воопшто не се развива при толку кисела реакција на средината. На подлога со рН 4 габата започнува да се развива слабо, со мал дневен пораст и на десеттиот ден дијаметарот на колонијата изнесува 41,75 mm. При рН 5 нејзиниот развој започнува нешто подобро, дневниот пораст е исто така поголем. На петтиот ден се измерени 38,58 mm (што е слично на крајната вредност при рН 4), а на десеттиот колонијата достигнала дијаметар од 72,23 mm.

Со приближувањето на реакцијата на средината кон неутрална, односно рН 6, се забележува подобар почетен развој на колонијата (6,84 mm). На петтиот ден таа достигнала дијаметар од 45,57 mm а на десеттиот 81,47 mm. При зголемување на рН од 6 на 6,3 се забележува уште подобар развој на колонијата, па на десеттиот ден дијаметарот изнесува 83,79 mm.

Најбрз развој на габата е констатиран при рН 6,5 (Таб. 1, Сл. 1). Уште првиот ден колонијата е поголема отколку при другите рН вредности (7,01 mm). Може да се забележи дека таа го зголемува својот дијаметар со најголем дневен пораст (околу 10 mm) и од 28,98 на третиот ден достигнува 88,53 mm на крајот од испитувањето.

Табела 2. Динамика на развојот на колонијата во зависност од рН вредноста на хранливата средина
(средна вредност од сите испитувани изолати)

Table 2. Dynamics of fungus development depending on nutrient medium pH value
(average value of the investigated isolates)

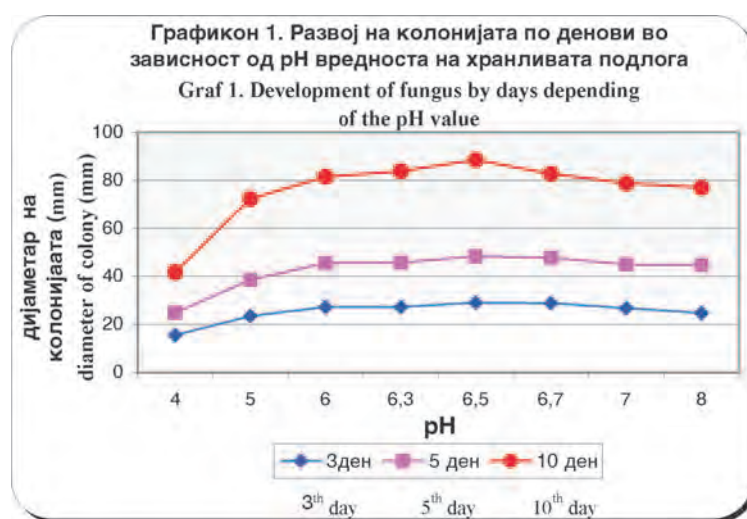
рН	пораств на колонијата во mm / growth of the colony in mm									
	денови / days									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	5.72	10.52	15.55	20.56	24.80	28.21	32.35	35.33	38.87	41.75
5	6.36	13.46	23.47	31.45	38.58	45.49	53.27	60.09	66.90	72.23
6	6.84	16.42	27.23	39.19	45.57	53.55	62.71	69.66	75.88	81.47
6,3	6.74	16.93	27.26	37.47	45.65	54.05	62.74	71.04	78.57	83.79
6,5	7.01	18.07	28.98	39.19	48.45	57.49	67.29	74.80	82.06	88.53
6,7	6.54	17.44	28.85	39.07	47.74	55.88	64.02	71.73	77.6	82.68
7	6.46	15.94	26.62	36.29	44.90	53.31	62.38	70.18	75.23	78.75
8	6.29	15.85	24.85	36.40	44.72	52.59	61.09	68.18	73.66	76.93

Натамошното зголемување до рН 6,7 резултира со забавен развој на габата, што не е толку забележително до средината на интервалот на инкубација, но потоа разликата е повоочлива (82,68 mm).

Со зголемување на базичноста на средината, развојот на колонијата е побавен. На крајот од инкубацијата дијаметарот на колонијата одгледувана на хранлива подлога со рН 7 изнесува 78,75 mm, а при рН 8

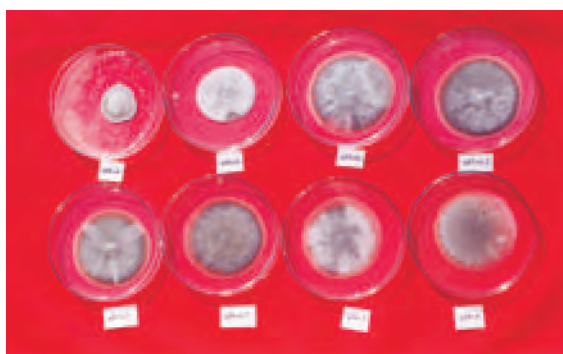
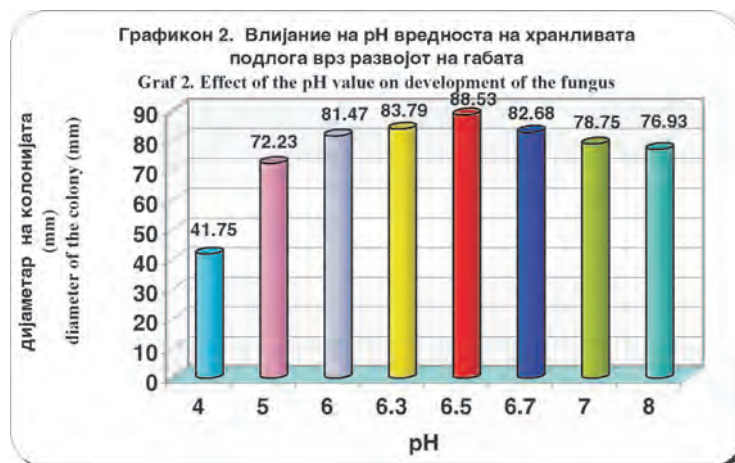
дијаметарот на колонијата е уште помал - 76,93 mm (Таб. 2).

Од Графикон 1 кој го прикажува дијаметарот на колонијата во различни денови од периодот на инкубација, може да се види дека овие разлики не се толку воочливи на третиот и петтиот ден од испитувањето, но на 10^{от} ден можат да се забележат поголеми скокови во вредностите, особено од киселата кон неутралната средина.



Од графичкиот приказ на дијаметарот на колонијата на 10^{от} ден (Графикон 2), може да се констатира дека габата најдобро се развива на хранлива подлога со рН 6,5,

односно од 6 до 6,7. На повисоки и пониски вредности порастот на колонијата се намалува.



Сл. 1 *A. alternata* - Развој на габата при различни рН вредности на хранливата подлога

Ph. 1. *A. alternata* - Development of the fungus in various pH values of nutrient medium

Динамиката на развојот на испитуваните изолати при различна рН вредност е прикажана во Графикон 3 (A-F). Може да се види дека ни еден изолат не се развиваат на рН 3, додека сите се развиваат најдобро на рН 6,5. Дневниот пораст на колонијата е најмал на рН 4, а најголем е на рН 6,5 и изнесува околу 10 mm.

Порастот на колонијата од сите изолати на десеттиот ден од инкубацијата при различни рН вредности е прикажан во Табела 3 и Графикон 4. Постои разлика помеѓу изо-

латите на сите рН вредности. Ако се анализира само рН 6,5, ќе се забележи дека колонијата од изолатот КУ 110 достигнала дијаметар од 88,53 mm, а таа од С 53 -56,30 mm. Исто така и РЈ 70 добро се развивал на сите рН вредности. Ваква состојба се забележува при сите вредности.

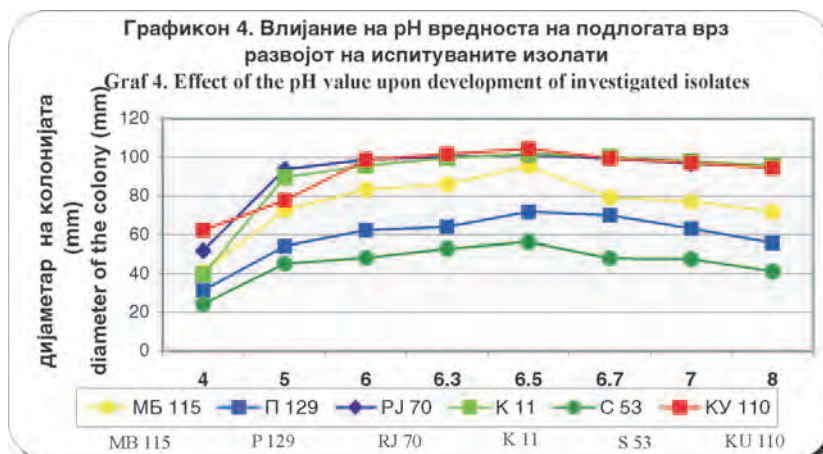
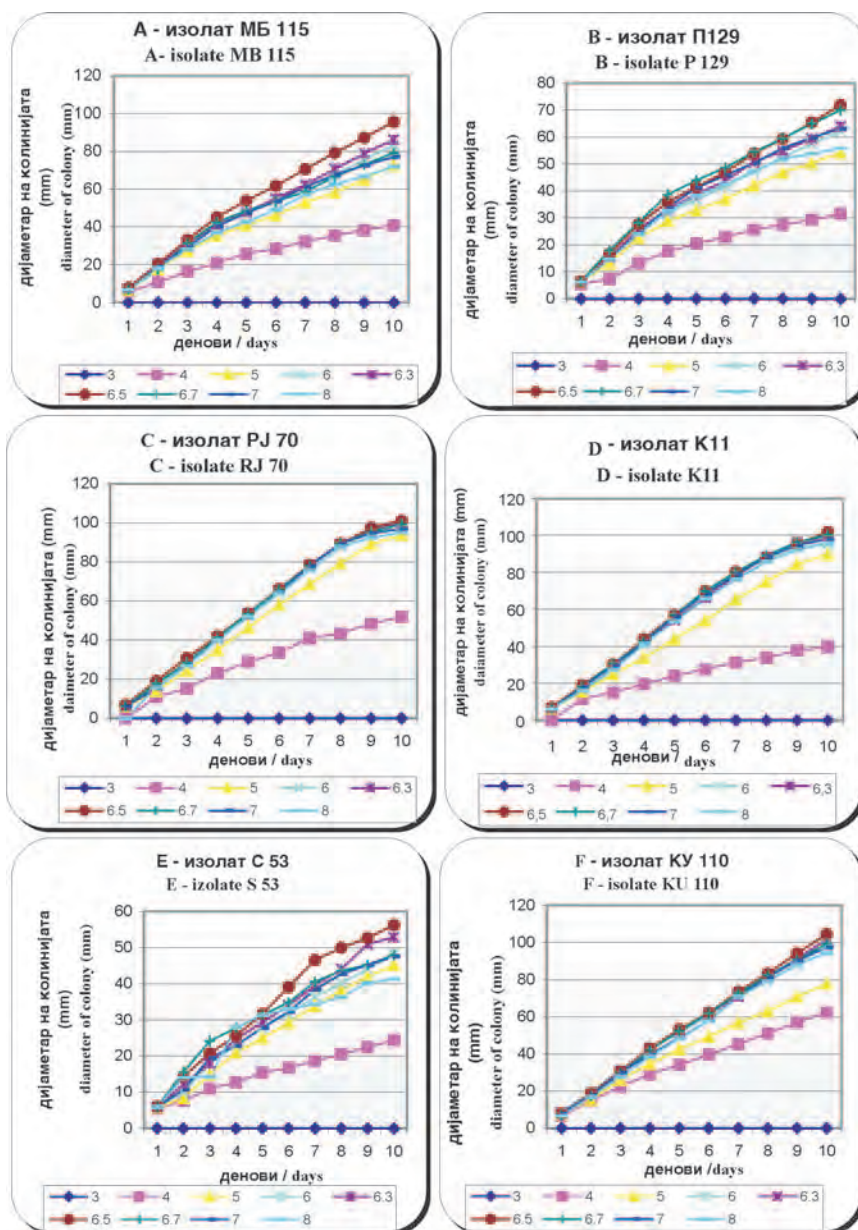
Може да се констатира дека помеѓу шестте испитувани изолати, најдобро се развива изолатот КУ110, а најслабо С 53. Но, сепак, сите најдобро се развиваат при рН 6, 6,3 и 6,5 (Таб. 3, Граф. 4).

Табела 3. Влијание на рН вредноста врз развојот и спорулацијата на испитуваните изолати
 Table 3. Effect of pH value upon the growth and sporulation of investigated isolates

рН вредност pH value	изолат / isolate							просек average	спорулација sporulation
	МБ 115 MB 115	П 129 P 129	РЈ 70 RJ 70	К 11 K 11	С 53 S 53	КУ 110 KU 110			
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	40,87	31,50	51,80	39,66	24,40	62,27	41,75	+	
5	72,80	54,23	93,70	89,66	45,22	77,75	72,23	+	
6	83,30	64,06	98,80	95,73	48,20	98,73	81,47	++	
6,3	86,10	62,26	100,33	99,60	52,90	101,60	83,79	++	
6,5	95,56	71,92	101,06	101,86	56,30	104,50	88,53	++	
6,7	79,20	70,00	99,33	100,20	48,00	99,33	82,68	++	
7	77,10	55,86	96,75	97,86	47,63	97,30	78,75	+	
8	71,86	63,20	95,10	95,73	41,33	94,33	76,93	+	

- не споруира; + слаба спорулација; ++ добра спорулација
 - no sporulation; + poor sporulation; ++ good sporulation

Графикон 3 (А-Ф). Влијание на рН вредноста врз развојот на испитуваните изолати
 Graph 3 (A-F). The effect of pH value upon the growth of investigated isolates



Влијание на рН вредноста на подлогата врз спорулацијата

A. alternata има способност за формирање на конидии во испитуваниот интервал на реакција на средината, односно од рН 3 до рН 8. Но, на рН 4 и 5 нејзината спорулација е слаба. Истото може да се забележи и на рН 7 и 8. рН вредноста која е оптимална за мицелијарниот развој на габата, поволно влијае и врз интензитетот на создавање конидии. Оваа габа најдобро спорулира во средина со рН вредност од 6 до 6,7 (Табела 3).

Во нашите истражувања констатиравме дека патогената габа *A. alternata* добро се развива и ја толерира промената на рН вредноста од 4 до 8. Најдрастична промена се забележува при намалување на рН од 4 на 3, при што таа не се развива. Со зголемување на рН од 4 до неутралната рН 6-6,5 таа се развива подобро, а на рН 6,5 најдобро. Со зголемување на базичноста нејзиниот развој е успорен.

Најголем интензитет на образување на конидии е констатиран при рН вредност од 6 до 6,7.

Резултатите од нашите истражувања се потврдуваат со изнесените податоци од други автори.

Taber et al. (1968, цит. по Rotem, 1994) констатирал дека *Alternaria spp.* се развива добро при рН 4,8 до 7,2.

Според истражувањата на Sami Saad и Hagedorn (1970), *A. tenuis* (*Syn. A. alternata*) се развива добро при широк дијапазон на рН вредност на компирдекстрозната подлога од 4,4 до 7,6. Оптималната рН вредност за развој на оваа габа изнесувала 6,5. Според Lacey (1992) таа изнесува 6,6.

Исто така и податоците за рН интервалот во кој габата најдобро спорулира се во согласност со нашите истражувања.

Во истражувањата на Јованчев (1997), *A. alternata* се развива при рН од 3,5 до 7,5. Најголем пораст на мицелијата на цврста хранлива подлога, како и принос на сувата биомаса на течна подлога е констатиран на рН 6,5.

Авторот констатира дека габата најдобро спорулира во средина со рН 5,8 до 6,9.

Misaghi et al. (1978) констатирале дека таа добро се развива и создава конидии во границите од 4,0 до 8,0, а оптималната рН вредност за развој и спорулација е 7.

ЗАКЛУЧОЦИ

➤ Патогената габа *Alternaria alternata* се развива и спорулира во широкиот интервал на реакција на средината од рН 3 до рН 8.

➤ Почетниот развој како и дневниот пораст на дијаметарот на колонијата се зголемува со приближувањето кон неутралната средина, а најголем е на рН 6,5.

➤ Дијаметарот на колонијата има најголема вредност при рН 6,5, што значи дека оптималната рН вредност за развој на оваа габа изнесува рН 6.

➤ Сите испитувани изолати покажаа иста зависност од рН вредноста, односно сите се развиваат најдобро при неутрална средина со рН 6,5. Разликите меѓу нив се во брзината на порастот на колонијата.

➤ Најдобро се развива изолатот КУ 110, а најслабо С 53.

➤ Габата образува конидии во интервалот од рН 3 до рН 8.

➤ Најдобра спорулација на габата има во средина со рН вредност од 6 до 6,7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Јованчев П., 1997. Проучување на алтернариозите *Alternaria solani*-Sorauer и *Alternaria alternata* (Fries) Keissler) кај домотот и мерки за нивно сузбивање во Македонија. Докторска дисертација, Универзитет "Св.Кирил и Методиј" - Скопје.
2. Lacey J. / Chelkowski J. and Wisconti A., 1992. *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo
3. Мицковски Ј., 1977. Кафени дамки на тутунот. Тутун/Тобаско, No 5-6, 269-280.
4. Misaghi et al. (1978) Misaghi I.J., Grogan R.G., Duniway J.M., Kimble K.A., 1978. Influence of Environmental and Culture Media on Spore Morphology of, Pathogenicity and Cultural Characteristics of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 68: 29-34.
5. Пејчиновски Ф., 1996. Земјоделска фитопатологија (Општ дел). Универзитет "Св. Кирил и Методиј"- Скопје.
6. Rotem J., 1994. The genus *Alternaria*. APS PRESS. St. Paul, Minnesota.
7. Sami Saad и Hagedorn (1970) Taber, A. Ruth, Vanterpool, C. T and Taber A. W., 1968. A comparative Nutritional Study of *A. raphany*, *A. brassicae* and *A. brassicola* with special reference to *A. raphani*. *Phytopathology* 58: 609-616.

THE EFFECT OF REACTION (pH) UPON DEVELOPMENT OF *ALTERNARIA ALTERNATA* IN TOBACCO

B. Gveroska, P. Taskoski
Tobacco Institute-Prilep

SUMMARY

Investigations were made on the effect of pH reaction, important environmental factor for development of pathogenic fungus *A. alternata* - the causing agent of brown spot disease on tobacco in the Republic of Macedonia.

Growth of the fungus and its capacity for conidia formation was monitored in a range between pH 3 to pH 8. Investigation was made on six fungus isolates from various tobacco varieties grown in Macedonia.

It was concluded that fungus developed and sporulated within the investigated pH range. Both the initial and daily growth were the lowest in acid reaction and, by approaching the neutral reaction, they increased.

Diameter of the colony had the highest value in pH range from 6 to 6.7, but the best pH was 6.5.

All of the investigated isolates revealed equal dependence from pH reaction. The most rapid development was noticed in QU 110 isolate and the slowest in C 53.

A. alternata sporulates in pH range from 4 to 8, but the highest intensity of conidia formation is obtained in pH 6 - 6.7, which is the optimum range for development of the fungus.

This work will make important contribution to the investigation of tobacco diseases. The influence of ecological factors on the fungus will contribute to finding solution to the problems related with maintenance of the pathogen and possibilities for occurrence of infection.

Key words: pH value, *Alternaria alternata*, diameter of the colony, sporulation, isolate

Author's address:

Biljana Gveroska
Tobacco Institute-Prilep
Republic of Macedonia